



## INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International Patent Classification <sup>6</sup> :  G01N 1/14, 30/04		A1	(II) International Publication Number:  WO 97/04297
			(43) International Publication Date: 6 February 1997 (06.02.97)
<p>(21) International Application Number: PCT/US96/11985</p> <p>(22) International Filing Date: 19 July 1996 (19.07.96)</p> <p>(30) Priority Data: 60/001,349 21 July 1995 (21.07.95) US Not furnished 3 July 1996 (03.07.96) US</p> <p>(71) Applicant: NORTHEASTERN UNIVERSITY [US/US]; 360 Huntington Avenue, Boston, MA 02115 (US).</p> <p>(72) Inventors: KARGER, Barry, L; 62 Deborah Road, Newton, MA 02159 (US). FORET, Frantisek; Apartment #40, 525 Highland Avenue, Malden, MA 02148 (US). ZAVRACKY, Paul, M.; 25 Beech Street, Norwood, MA 02062 (US). MCCGRUER, E., Nicol; 265 Dedham Street, Dover, MA 02030 (US). XUE, Qifeng; Apartment #3, 26 Pearl Street, Somerville, MA 02145 (US). DUNAYEVSKIY, Yuriy, M.; Apartment #18, 1040 Main Street, Malden, MA 02148 (US).</p> <p>(74) Agents: SCHURGIN, Stanley, M. et al.; Weingarten, Schurgin, Gagnbin &amp; Hayes, 10 Post Office Square, Boston, MA 02109 (US).</p>		<p>(81) Designated States: CA, JP, European patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p><b>Published</b> <i>With international search report.</i></p>	
<p>(54) Title: MICROSCALE FLUID HANDLING SYSTEM</p> <p>(57) Abstract</p> <p>A microscale fluid handling system (10) that permits the efficient transfer of nanoliter to picoliter quantities of a fluid sample from the spatially concentrated environment of a microfabricated chip to "off-chip" analytical or collection devices (23) for further off-chip sample manipulation and analysis is disclosed. The fluid handling system (10) is fabricated in the form of one or more channels (12), in any suitable format, provided in a microchip body or substrate of silica, polymer or other suitable non-conductive material, or of stainless steel, noble metal, silicon or other suitable conductive or semi-conductive material. The microchip fluid handling system (10) includes one or more exit ports (16) integral with the end of one or more of the channels (12) for consecutive or simultaneous off-chip analysis or collection of the sample. The exit port or ports (16) may be configured, for example, as an electrospray interface for transfer of a fluid sample to a mass spectrometer (23).</p>			

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

## 【特許請求の範囲】

(11)特許出願公表番号

特表2002-515820  
(P2002-515820A)

(43)公表日 平成14年5月28日(2002.5.28)

(21)出願番号 特願平9-506906

(86)(22)出願日 平成8年7月19日(1996.7.19)

(85)郵便文書提出日 平成10年1月21日(1998.1.21)

(86)国際公開番号 PCT/US96/11985

(87)国際公開番号 WO97/04297

(80)国際公開日 平成9年2月6日(1997.2.6)

(31)優先権主張番号 6.0/001.349

(32)優先日 平成7年7月21日(1995.7.21)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 0.8/675.177

(32)優先日 平成8年7月3日(1996.7.3)

(33)優先権主張国 米国(US)

1. 1 以上のチャネルが内部に集成的に形成された基板を備え、

前記1 以上のチャネルは、前記基板から外部の分折および／または収集システムに向けた通過する微量の流体試料の移送に適用される1 以上の出口に終結する

ことを特徴とする微量流体処理システム。

2. 前記1 以上のチャネルは、前記基板の1 以上との面に延長されることを特徴とする請求項1 の微量流体処理システム。

3. 前記基板は、單一面内に複数のチャネルを備えることを特徴とする請求項1 の微量流体処理システム。

4. 前記基板は、複数の前記面を備えることを特徴とする請求項3 の微量流

体処理システム。

5. 前記1 以上の出口の少なくとも1つは、前記1 以上のチャネルが通過する面とは異なる面上に配設されていることを特徴とする請求項1 の微量流

体処理システム。

6. 前記基板は、光学的勾配材料であることを特徴とする請求項1 の微量流

体処理システム。

7. 前記基板は、非導電性材料であることを特徴とする請求項1 の微量流

体処理システム。

8. 前記基板は、導電性材料であることを特徴とする請求項1 の微量流

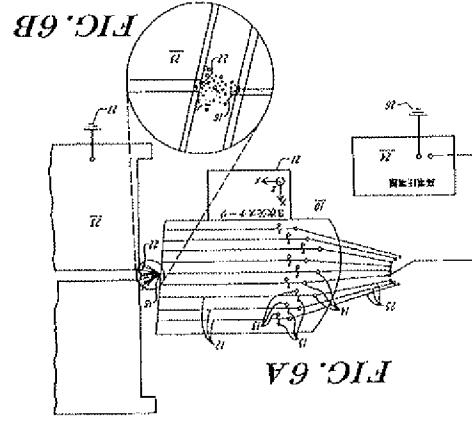
体処理システム。

9. 前記基板は、脱葉可能な材料であることを特徴とする請求項1 の微量流

体処理システム。

(54) [発明の名稱] 数量流体処理システム

(57) 【要約】 テノリットルからピコリットルの量の流体試料を、必要なオフチップ試料操作のために、管細胞統立チップの空間的に集中させた環状からアフチップの分析または収集デバイス(2.3)へ向けて供給せることを可能にする微量流体処理システム(1.0)は、微小テップ本体、即ちシリカ基板、ポリマーまたは他の柔軟な非導電性材料、またはスチレンレススチール、貴金属、シリコンまたは他の適切な導電性または半導体材料内に形成された1 以上のチャネル(1.2)の形態で組み立てられる。微小テップ流体処理システム(1.0)は、運転してまたは同時に前記試料のオフチップ分析または収集を行うために、1 以上の前記チャネル(1.2)の端部に接する1 以上の出口(1.6)を有する。出口(1.6)は、例えば、質量分析器(2.3)に流体試料を移送させるためのエレクトロスプレイ・インターフェースとして構成される。



10. 2 つの前記出口の間の前記基板の表面部分は、凹んでいることを特徴とする請求項1 の微量流

体処理システム。

11. 前記チャネルの2 以上は、前記1 以上の出口の1 つに終結していることを特徴とする請求項1 の微量流

体処理システム。

12. 前記1 以上の出口の少なくとも1つは、前記流体試料を外部の分析およ

び／／または収集デバイスにスプレイスするためには適用されることを特徴とする請求項1の微量流体処理システム。

13. 前記1以上の出口の少なくとも1つは、前記流体試料を外部の分析および／／または収集デバイスにエレクトロスプレイスする請求項12の微量流体処理システム。

14. 前記出口は、気圧式または超音波式噴霧を行いうるに構成されていることを特徴とする請求項12の微量流体処理システム。

15. 前記エレクトロスプレイス出口は、前記1以上のチャネルに集積的に組み立てられていることを特徴とする請求項13の微量流体処理システム。

16. 前記エレクトロスプレイス出口は、前記基板から分離して組み立てられ、そして前記1以上のチャネルの端部に固着されていることを特徴とする請求項13の微量流体処理システム。

17. 前記1以上の出口の少なくとも1つは、大気圧一化半イオン化による前記流体試料の移送に適用されることを特徴とする請求項1の微量流体処理システム。

18. 前記1以上の出口の少なくとも1つは、マトリクス支援レーベ脱離イオノ化による前記流体試料の移送に適用されることを特徴とする請求項1の微量流体処理システム。

19. 前記基板の前記1以上のチャネルに隣接する領域は、微量流体試料の試料化または微小準備または分析操作を導入するために、および流体試料を前記領域から前記1以上のチャネル内に移送するためには適用されることを特徴とする請求項1の微量流体処理システム。

20. 前記基板に固着され、流体を前記1以上のチャネル内に移送するために適用される貯蔵器または入り口を更に備えることを特徴とする請求項1の微量流体処理システム。

21. 前記1以上の出口の回りの前記基板の表面の部分は、前記1以上の出口に出で行く前記流体試料によって表面が壊ることを防止する材料で被覆されてい

ることを特徴とする請求項1の微量流体処理システム。

22. 前記基板は、表面が濡らない材料であることを特徴とする請求項1の微量流体処理システム。

23. 前記1以上の出口に隣接する前記1以上のチャネルの内部は、前記エレクトロスプレイス出口の中に形成されていることを特徴とする請求項13の微量流体処理システム。

24. 前記エレクトロスプレイス出口は、金属で被覆されていることを特徴とする請求項13の微量流体処理システム。

25. 前記1以上のチャネルの1つの内部表面は、前記基板とは異なる材料で被覆されていることを特徴とする請求項1の微量流体処理システム。

26. 1以上の出口で終結する1以上のチャネルを集積化した基板を提供するシステムと、

前記1以上のチャネルの1つに流体試料を供給するステップと、前記チャネル内で前記流体試料を前記出口の方向に通過させるステップと、前記チャネルの前記出口を通して前記基板から前記流体試料を出し、そして前記基板から離れた外部の分析および／／または収集システムに移送するステップと、

前記1以上のチャネルを特徴とする微量の流体を処理するための方法。

27. 前記出口は、前記基板から前記外部の分析および／／または収集システムに向け出て行く前記流体試料をスプレイするよう構成されていることを特徴とする請求項2,6の方法。

28. 前記分析および／／または収集システムは質量分析器であり、そして前記出口は、前記微量流体処理システムと前記質量分析器との間のエレクトロスフェリ・インターフェースとして構成されていることを特徴とする請求項2,7の方法。

29. 前記出口は、圧縮空気式または超音波式噴霧を行いうるよう構成されていることを特徴とする請求項2,7の方法。

30. 前記分析および／／または収集システムは質量分析器であり、そして前記

出口は、大気圧一化導イオン化により前記流体試料を前記質量分析器に移送する  
ように構成していることを特徴とする請求項 2 6 の方法。

3 1 . 前記出口は、前記基板から前記外部の分析および／または収集システム

に向けて出で行く前記流体試料を、マトリクス支援レーザ脱離イオノン化によりス  
プレイするように構成していることを特徴とする請求項 2 6 の方法。

3 2 . 前記外部の分析および／または収集システムは、レーザ誘起電離光による  
検出用であることを特徴とする請求項 2 6 の方法。

3 3 . 前記流体試料を前記基板から出て行かせるステップにおいて、前記微量  
流体処理システムは、前記外部分析および／または収集システムに対し静止して

いることを特徴とする請求項 2 6 の方法。

3 4 . 前記流体試料を前記基板から出て行かせるステップにおいて、前記微量  
流体処理システムは、前記外部分析および／または収集システムに対し移動する  
ことを特徴とする請求項 2 6 の方法。

3 5 . 前記流体試料を前記基板から出て行かせるステップに先行して、前記流  
体試料または前記流体試料の成分は、前記チャネル内で検出されることを特徴と  
する請求項 2 6 の方法。

3 6 . 前記基板は、流体試料を前記試料の成分に分離するためのデバイスを更  
に備え、前記方法は、前記試料を前記試料の成分に分離するためのステップを更  
に備えることを特徴とする請求項 2 6 の方法。

3 7 . 前記流体試料を前記試料の成分に分離するためのデバイスは、前記基板  
内に集積化していることを特徴とする請求項 3 6 の方法。

3 8 . 前記流体試料を前記試料の成分に分離するためのデバイスは、前記基板  
に取り外し可能な組合されていることを特徴とする請求項 3 6 の方法。

3 9 . 前記 1 以上のチャネルの前記 1 つは、流体試料を前記試料の成分に分離  
するためのデバイスを備えていることを特徴とする請求項 3 6 の方法。

4 0 . 前記基板は、試料の温湯を生起させるためのデバイスを更に備え、前記  
方法は、前記試料を温湯するステップを更に備えることを特徴とする請求項 2 6

## 【発明の詳細な説明】

名称 微量流体処理システム

## 発明の分野

この発明は、微量流体処理システムに関する、特に微小デバイス内に組み込まれたその様なシステムに関するものである。

## 発明の背景

微細組立技術における近年の発展は、生化学的分析用の微小な小型ツールを小さなデバイス内に集積化することを可能にしている。完全な化学処理システム、例えば反応チャンバー、分離用毛細柱およびそれらに開通した電極貯蔵器は、ある種の検出器と同様に、例えはガラスまたは融合シリカの微小チップ上に合体させることができ、その様な、"チップ上の研究室"は、原則として、微小電気材料の効果的な利用または操作を可能とする。意図した処理が導入された後に、処理された化合物は、更なる分析操作を遂行するために都合の良い空間的に集中した形態のチップ上で利用可能になる。試料成分の体積はナノリットルのオーダーであるため、連続する操作は好ましくは同じデバイス内で遂行されるべきである(例えば、Effenhauser et al., Anal. Chem. 67:2284-2287, 1995を参照のこと)。この強制は、しかしながら、質量分析器のようなある種の強力な分析器具の効果的な利用をそれほど許容しない。

## 発明の要約

この発明は、ナノリットルまたは他の微少量の流体試料を、微細組立チップのような微小デバイスの空間的に集中した環境から、"オフチップ"の分析または収集デバイスに向けて、試料体積を増加させることがなく効果的に移送することを許容する微量流体処理システムを指向している。この発明の流体処理システムは、1以上の毛細柱の形態のチャネルとして本体または基板内に組み立てられる。前記基板は、シリカやポリマープラスチックのような適切な非導電性材料、またはステンレススチールや黄金属のような適切な導電性材料、またはシリコンのような半導体材料から製造される。この発明の微小デバイスは、適用された試料に対する連続したまたは同時の分析または収集をオフチップで行うために、前記

1以上のチャネルの端部に整合した1以上の出口を有する。この出口は、例えは、エレクトロスプレイ質量分析法による分析(ESI/MS)のために、大気圧一化学イオン化質量分析法による分析(APCI/MS)のために、マトリクス支援レーザ脱離イオン化質量分析法(MALDI/MS)のために、核磁気共鳴分析(NMR)のために、圧搾空気式または超音波式に支援されたスプレイ試料処理のために、電気化学、導電性、またはレーザ誘起蓄光のオフチップ検出システムに移送するために、あるいは例えは収集毛細柱内または収集膜上の特殊な被片の収集のために、試料を移送するよう構成される。試料の移送は、小滴、スプレイ(喷霧)または流れ、あるいは望まれるときは、移送された試料を受け取る器具またはデバイスにとつて都合の良い手法で行われる。移送される流体は、液体または気体の形態をとる。

微小デバイスの前記チャネルは、流体試料に対する連続したまたは同時に処理を許容するためのどのような形態でも良い。この発明の1つの実施例では、前記チャネルは空間的に離れた形態に配列され、各チャネルはそれぞれの試料の導入部と出口を有する独立した微小分析システムを代表する。他の実施例では、微小デバイスの前記チャネルは、環状パターンに配列され、全てのチャネルは、前記微小デバイスの1つの表面に集積的に形成された1つの出口に集中している。出口は、この出口を介して分析用の試料を受け取る質量分析器や膜のような外部デバイスとのインターフェースとして選用される。

いかなる実施例においても、各チャネルは電気接点を有し、それにより電気回路の経路がチャネルに沿って形成されるようになっている。例えば1つの電気接点はチャネルの入り口側に設けられ、そして他の1つの電気接点は出口側に設けられる。変形された配置では、チャネルの出口より外側の外部接点によって電気回路が完成される。例えば、1つのチャネルの出口が質量分析器用のエレクトロスプレイ源として使用されている場合、質量分析器のサンプリング孔は、対向電極として機能する。電気回路をチップ上の各チャネルに順番に切り換えることにより、複数の分析用試料はチップから外部に移送される。分析が終了すると、このチップは廃棄される。かくして、この発明はラッシングのような操作を経

減じ、またに質量分析器やその他の分析および／または販売用のデバイスの効果的な使用を提供する時の動作過程の試料の繰り越し問題をなくすことができる。

試料は、この発明の微小デバイス上のチャネルの長さ方向に沿って、または出口を経由してチャネル内に、またはチャネルの長さ方向に沿って、または出口を経由してチャネルから送り出すように、輸送することを要求される。それ故、要求される流体移送送を支援するために、この発明の微小デバイスの内部にまたは関連してポンピングデバイスが使用される。例えば、試料被体の移動を果たす熱膨張を起こすために加熱素子が使用される。あるいは、あるいは微小な気泡を生成するために加熱素子が使用される。後者の場合、気泡の膨脹がチャネル内の試料の移動を生起させる。他の選択肢には、オンチップの電気分解によって生成された 1 もしくは複数の気体の圧力によるポンピングが含まれる。流れはまた、チャネルに沿った圧力降下により、またはチャネル内側の電気浸透によって生成される。

試料がチャネルの端部に移動すると、それらはこの発明の微小デバイスの外部において、種々の技術による検出や分析に供される。これらの技術には、質量分析、核磁気共鳴、レーザ誘起蛍光、紫外線検出、電気化学的検出などが含まれる。各チャネルの端部は、試料被体の移送を助長するように構成されたチップを備える。質量分析が解析の方法である場合、各チャネルの端部には、微小エレクトロスプレイによって質量分析器のサンプリング孔内にイオンを移送することを許容するエレクトロスプレイ出口頭もチップが、微細組立技術によって形成される。

他の出口の構成は、気圧または超音波で支援されたスプレイによる試料移送用に使用される。更に、移送される試料が、液体キャリアによつてチャネルによる溶解した気体である場合には、スプレイ移送用に液体キャリアを加热して試料を気相に復帰させることで、チャネルの出口側端部は、エレクトロスプレイ・チップとして機能する構成および／または大きさにする。あるいは、そのチップが、液体キャリアによつてチャネルへの付属物として形成される。基板の端部表面は、隣接する出口の間で凹みをつけ、汚染転移（クロス汚染）を最小にする。あるいは、基板は、温らかい材料で製造され、または化學的に温らないように修正され、これにより外部に出て行く液体自身がエレクトロスプレイを提供できるようになる。必要であれば、微小デバイスは、移動可能なステージの上に搭載され、それにより各出口が順番に質量分析器またはオフチップ分析が要求する場合に有利である。

の他の有用なデバイスのサンプリング孔に対し正確に配列されるようになる。

この発明は、シース(sheath)流体(例えば、液体または気体)において、または要求される分析のタイプとチャネルから出で行く試料のサイズに依存するシースレス(sheathless)・モードにおいて使用できる。シース液体が要求される場合、出入口はチャネルの端部に形成される。シース液体を経由して電気的接続を提供することに先行して、液体、化学物質および／または標準液を追加するために、出口は2つのチャネルの集中点において形成され、そして1つは試料を供給し、他の1つはシース液体を供給する。カチオン・モードおよびアニオン・モードの双方におけるアナライトの選択的分析は、電界の極性の迅速な切り換えによって容易に実行される。

異なるサイズのチャネルが同じ微小デバイス上で使用され得る。例えど、大きなチャネルは浄化操作に使用され、小さいチャネルは処理操作に使用される。更に、試料または試料の成分の化学処理、分割、分離または検出のよう他の操作が、チャネルへの試料導入に先行して、デバイスの他の領域で実行される。かくして、更なる分析や収集のために試料やその成分をトップ外部に移送することに先行して、この発明のデバイス内で開始試料およびその成分の双方について試料化學を遂行し、または微小予備準備および分析操作を導入することが可能になる。加えて、試料の検出が、例えどオフチップ分析と検出用の相補的制御情報を提供できるファイバ光学的検出システムによつて、またはレーザ誘起蛍光、伝導性および／または電気化学的検出器のような他の好適な検出器によつて微小デバイス自体の上で遂行され得る。

この発明の微小デバイスの好適な組立て方法は、それ自体当業者には良く知られたものであり、例えど、フォトリソグラフィおよびエッチング技術、レーザ加工、ステリゾグラフィのような多層組立技術、そしてスタンピング、封止(モールディング)または鋳造技術を含んでいる。

チャネルは、円筒形状、台形形状、その他の断面形状であり得る。チャネルのパターンは、單一平面において直線的または曲線的である。更に、微小デバイスは、独立した接続されていないチャネルの複数のそのような層を含んでいる

。この代わりに、個別のチャネルは、希望する入り口から希望する出口に向けて試料を移送することを可能にするために、2以上の平面間に延びることができます。チャネルはまた、そのような移送を可能にするために、いかなる必要な長さにもなり得る。その最も基本的なものでは、チャネルは1つの入り口と1つの出口とを結合する単なる直線状のスリットである。

緩衝液貯蔵器、反応チャンバー、試料貯蔵器、および検出セルもまた、個別のチャネルに沿つて組み立てられる。より複雑な構造は、横断(スタッキング)により、さらもなければ2以上の微細組立デバイスの結合(アッセンブリング)により製造される。加えて、試料貯蔵器のような個別の器具プロック、前処理または分離チャネル、および出口は、別々に微細加工され、そしてエレクトロニクスのハイブリッド集積回路を形成するのと概ね同じ手法に従つて、1つの完成したシステムに組み込まれる。微細組立技術は精密であり、選択されたチャネルと出入口の形状、寸法に関する高度な再現性を有する。

この発明の微量流体処理システムは、質量分析器のような強力な分析デバイスを、現在可能であることに比べて、より一層効果的に使用することを可能にする。加えて、この発明のシステムは、数多くの試料を自動分析するために好適なコスト効率に優れた施設可能なデバイスとして製造され得る。この微小加工のアプローチを使用することにより、質量分析法による高度のスループットが可能になる。加えて、少ない体积および量の試料の処理が促進され、そして貴重な試料と試薬の消費が低減される。適用には、スクリーニングや診断方法のように特に高精度のスループットと汚染転移の最小化が要求される研究室の分析方法、および新鮮なコラムが各操作毎に要求される葉物学(ファーマコキネティクス)のような同様の他の分析方法が含まれる。

この発明の他の特徴と利点は、以下に示すこの発明の好ましい実施例の説明から、および請求の範囲から明らかなにされる。

#### 図面の簡単な説明

図1aは、この発明の微量流体処理システムの一実施例の平面図である。この図では、試料移送に関連するチャネルは單一平面内で平行に配列されている。

図1 b は、追加的なウエル延長部を示した、この発明の実施例の断面図である。図1 c は、付加された試料／電極ロックを示した、この発明の実施例の断面図である。

図1 d は、試料移送用の結合されていないチャネルの複数の層を示した、この発明の実施例の断面図である。

図1 e は、複数平面構成のチャネルを示した、この発明の実施例の断面図である。

図2 a は、この発明の微量流体処理システムの他の実施例の平面図である。図2 b - 2 d は、図2 a に描かれた出口の3つの異なる実施例の側面図である。図3 は、チャップ中央の孔の縁部上の分離した出口に各チャネルが終端する試料移送チャネルの環状配置の例を示す。

図4 は、この発明の他の実施例におけるチャネル配置の平面図である。この図では、出口はスプレイ部分として構成され、シース液体と共に、オフチップ試料操作用の気圧式スプレイまたはエレクトロスプレイの何れにも使用される。

図5 は、複数のチャネルが1つの出口に集中した、この発明の他の実施例のチャネル配置の平面図である。

図6 a は、質量分析器に対するエレクトロスプレイ・インターフェースとして使用される図1 a の微小デバイスを模式的に示す構成図である。

図6 b は、図8 a で指示された部分の拡大図である。

図7 a および7 b は、図1 a の微小デバイスの、同じ幅および深さの2つの選択されたチャネルから0.01 mg/ml のミオグロビン (200 n l/mi n) を注入したときのエレクトロスプレイ質量スペクトルを示す。

図8 a - 8 d は、微小デバイスの異なるチャネルからメタノール／水／酢酸 (75/25/0, 1) 中に異なる試料を注入したときのエレクトロスプレイの質量スペクトルを示す。図8 a の試料は0.1 mg/ml のミオグロビン、図8

b の試料は0.1 mg/ml のエンドルフィン、図8 c の試料は0.1 mg/ml のヒト成長ホルモン、図8 d の試料は0.1 mg/ml のユビキチン (ubiquitin) である。

図9は、メタノール／水／酢酸 (75/25/0, 1) 中の0.001 mg/ml のミオグロビンをESI/MS検出した時のエレクトロスプレイ質量スペクトルを示す。

図10は、図1 a の微小デバイスからメタノール／水／酢酸 (75/25/0, 1) 中に、0.05 mg/ml のヒト成長ホルモンと0.05 mg/ml のユビキチンの混合物を注入したときの、前記デバイスを使用することによる検出限界の研究中に得られたエレクトロスプレイ質量スペクトルを示す。

図11 a は、圧力を加えるシリジン内のメタノール／水／酢酸 (75/25/0, 1) と共に、水溶液から0.05 mg/ml のヒト成長ホルモンを注入したときのエレクトロスプレイ質量スペクトルを示す。

図11 b は、メタノール／水／酢酸 (75/25/0, 1) の溶液から直接0.05 mg/ml のヒト成長ホルモンを注入したときのエレクトロスプレイ質量スペクトルを示す。

図12 a のパート i および ii は、pH 8.2 のトリス2.0 mM中に3.0 μMのメリチンを含み、メリチン／トリプシン比率=3.00/1 (w/w) である場合の、オランチップでのメリチンのトリプチック温度の、2つの異なる時点におけるエレクトロスプレイ質量スペクトルを示す。

図12 b のパート i および ii は、pH 8.2 の2.0 mM中に2 μMのカゼインを含み、カゼイン／トリプシン比率=6.0/1 (w/w) である場合の、オランチップでのカゼインのトリプチック温度の、2つの異なる時点におけるエレクトロスプレイ質量スペクトルを示す。

図13は、6.0%のアセトニトリルと4.0%のH<sub>2</sub>O中の短いDNA破片 (2.0 μg/ml) のエレクトロスプレイ質量スペクトルを示す。

発明の詳細な説明

この光明の微小デバイスは、オフチップでのみ利用可能な強力な分析および

ノまたは収集システムを伴う、微小反応および分離システムの集成化を可能とする。この発明の一実施例が図 1 a および 1 b に示されている。この実施例は、一連のチャネルまたは溝を有する微小チップ基板または本体を含んでいる。これら一連のチャネルまたは溝は、ガラス本体またはチップの平坦な 1つの表面に、それらに開通した試料入り口および緩衝液貯蔵器に沿って平行に配列されるように組み立たるものである。出口は、前記チップの縁部上の、それらに対応するチャネルの端部に組み立てられる。前記チップの溝部は、チャネルを包囲するカバー板で覆われる。

図 1 a を参照すると、チップ (1 0) は、開通するカバー板は図示されていないが、微小チップ基板 (1 1) の表面を全て同じ幅および深さにエッチングした 9 個の平行なチャネル (1 2) を有している。チャネルは、チャネル配列を最適化するために、3 つの異なる長さに形成されている。各チャネル (1 2) は、例えばチャネルを通過して試料を注入するために、1 つのチャネル内の試料に添加される異なる溶液を操作するために、そしてまた電気泳動緩衝液供給器として使用するために、チャネルへのアクセスを許容する 3 つのウエル (1 3, 1 4, 1 5) に結合されている。各ウエルは、直徑 1 mm、深さ 0.5 mm、容積 0.4 μL を有する。各ウエル (1 3 および 1 5) は、溝またはチャネル (1 2 a) によって、対応するチャネルに結合されている。プラスチック製の微小チューブ (図示せず) は、前記カバーの上に、且つ前記ウエルに開通して、ウエルの容積を例えば 10 μL に増加するためを取り付けられる。図 1 b を参照すると、試料は、チップが試料導入の開配置される供給チューブまたはシリジングの様な便利な手段によって、カバー板 (1 3 c) の追加的なウエル延長部 (1 3 a) および試料入り口 (1 3 b) を通してウエル (1 3) 内に導入される。

再び図 1 a を参照すると、各チャネルの端部で微小チップ基板の縁部にある出口 (1 6) は、出口からエレクトロスプレイされる溶被を分離するために、2 つの出口 (1 6) の間の微小チップ基板の外部表面領域 (1 8) 上の湿らない皮膜、例えばポリジメチルシリコーンオーリールを使用することにより、エレクトロスプレイ出口として機能する。図示の例では、チャネルは相互に 6 mm 離れて配置されている。変形例として、出口を分離し、チャネル相互間の汚染転移を最小

化するためには、凹み (2 0) が、隣接する出口 (1 6) 間の微小チップ基板の外側表面に切り込みを入れることにより形成され得る。

図 1 c に示すこの発明の実施例では、試料／電極プロックが、微小チップ本体に取り付けられる別体の素子として提供される。図 1 c を参照すると、本体 (1 1) は、前記本体の 1 側面に沿って配置された試料／電極プロック (3 0) を備えている。このプロック (3 0) は、供給チャネル (3 3) を経由して対応するチャネル (1 2) の入り口の端部に接続される試料入り口 (3 1) を備えている。電極 (3 2) がプロック (3 0) によって支持されている。この電極は、高電圧電力を接続するためには、供給チャネル (3 3) 内に位置する一端と、前記プロックの外部に位置する他端とを有する。この実施例では、内部で試料の前処理を行うために、供給チャネル (3 3) はバッキング材料 (3 4) を含んでいる。図示のチャネル (1 2) は、外部の収集または分析デバイスへ移送するための液体試料をスプレイする出口チップを形成するために、テープ付き端部 (3 5) を備える。

ある種の適用のために、微小デバイス基板は、独立してチャネルには結合していない複数の層を含むように組み立てられる。図 1 d を参照すると、この発明の実施例の断面図が、図 1 a に示したこの発明の実施例による單一平面内において、それぞれが複数のチャネルを表す独立したチャネル (1 2 b), (1 2 c) および (1 2 d) を示している。チャネル (1 2 b), (1 2 c) および (1 2 d) を含む複数の平面は、基板プロック 1 1 a 内に 1 つの層が他の層の上に重なって積層された層を有する。各層の各チャネルは、図示のように、出口 (1 6 b), (1 6 c) および (1 6 d) で表されるそれ自身の出口にそれぞれ終結している。この実施例は、複数の試料のスクリーニングを高いスループットで行うためには、特に有用である。

上述した実施例では、チャネルは、概ね前記基板または本体の單一平面内に並んでいる。このチャネルはまた、図 1 e に示すような 2 以上の平面の間に延びることもできる。図示するように、チャネル (1 2 e) は第 1 の上側平面から第 2 の下側平面に向けて延び、そして微小チップ基板 (1 1) の縁部の出口 (1 6 e) に終結している。一般的に、チャネルは、意図したチャネルのパッケージング段

度と微小チップデバイスの関連する成分を許容するために、基板または本体（1）の範囲内でどのような構成をとることもでき、またどのような都合の良い経路に進むことができる。

2つの与えられたチャネル間の距離は、汚染転移を最小化することに加え、要求されるチャネルの濃度に依存し、また開通する化学物質に依存して、選択される。低いチャネル濃度が要求される場合、個々のチャネル間（および個々の出口間）の距離は、数ミリメータになり得る。この場合は、デバイス全体は、オフチップ（微小デバイス外）の分析器に対し各出口を精密に位置決めするために、移動ステージ上に搭載される。高いチャネル濃度が要求される場合は、チャネルおよびそれに開通する出口相互間は、接近する（数10ミクロンだけ離れる）。

この場合、移動ステージは必要ない。

この発明は、環状またはスパーカー状に配列されたチャネルを伴うように実現することもできる。図2aを参照すると、本体（40）内に、毛細柱チャネル（42）の配列が環状またはスパーカー状配置として提供されている。チャネル（42）の内側端部は、共通出口（46）に直面している。チャネルの入り口端部には、図示するように、試料入り口（56）と緩衝液貯蔵器（52）に結合している。一般的には金薄膜の電極が、基板（41）上に形成されるか、または基板（41）に固定される。各電極は、対応する緩衝液貯蔵器の内部に位置した一端と、外部電源へ接続するたためにアクセスできる他端とを備える。試料入り口（56）と緩衝液貯蔵器（52）は、液体を供給するためには、または開通した部分および／またはチューブが基板の表面に向けて、またはそこから外側に延長して供給装置と結合するために、アクセスすることができる。出口は、種々の構成をとり得る。図2bを参照すると、基板のチャネルを埋むカバー板（43）から外側に延長されたエレクトロスプレイチップ（48）に結合された出口が図示されている。このチップは、一般的には1~60マイクロメータの出口孔を有する。図2cの実施例では、出口（46）は電界放射チップ（50）の配列に結合している。このチップは、それぞれ直径約1~10マイクロメータの出口孔を有する。更に変形した出口の構成が図2dに示されている。この例では、ノズル孔が、出口（46）に隣接したカバー板（43）中の開口（49）内に形成されている。この

ノズル孔の直徑は、約1~50マイクロメータである。

図3に示される異なる実施例では、チャネル（62）は規則正しく離れて環状に配列されるように、基板（61）内に配置されている。チャネル（62）の外側端部は、対応する貯蔵器（69）に結合している。各貯蔵器（69）に対しては、上述した実施例のように、電極が設けられている。前記チャネルのそれぞれには、個々の出口（66）に向けてテープ付けされた内側端部を備えている。個々の出口の全ては、基板（61）内の前記配列の中心部の單一のホール（68）を通してアクセスできる。それぞれのチャネルは、意図する能力と操作要求に適合するためには、1以上の試料貯蔵器と1以上の緩衝液貯蔵器を有する。

図4は、試料分離／注入チャネル（72）とシース（試薬）液体チャネル（73）の対を備えた実施例を示している。各対は出口（76）に集まっている。出口は、シース液体または気体と共に使用されるスプレイ部である。気圧式スプレイでもエレクトロスプレーでも、オフチップ試料分析または収集用に適用できる。シース・モードにおける試料のエレクトロスプレイ移送のために、高電圧電源（78）が試料貯蔵器（74）とシース貯蔵器（75）の両電極（79）の間に接続される。この代わりに、貯蔵器（74）または（75）の電極と、出口（76）に隣接する質量分析器の入り口部における電極との間に、電圧を印加することもできる。第1の配置では、出口（76）におけるエレクトロスプレイ電位は、合計印加電圧と両チャネル（72）および（73）の抵抗値の開数である。第2の配置では、出口（78）におけるエレクトロスプレイ電位は、試料貯蔵器に印加された電圧に直接比例する。出口はまた、それらの電位を能動的に制御するための電極を含んでいてもよい。

シース液体流は、試料チャネル内の流れに対する前述したと同様の方法によつて、制御され得る。シース液体の成分は、希望する適用に依存する。シース液体は、例えばエレクトロスプレイ溶液のpHを制御するように、水／揮発性酸（または塩基）の有機溶液を含むことができる。シース液体はまた、マトリックス支接レーザ脱離および連続飛翔時間（TOF）型質量分析器での分析のために、適切なマトリックス（例えば、ジドロベンゾニック酸、シナビニック酸）の溶液を含むことができる。エレクトロスプレイおよび気圧支援式喷射の双方が、

この場合には使用できる。レーダおよび／またはマトリクス支援レーダ脱離イオノ化は、例えば膜やステンレススチール等の外部支持体上の微小デバイスから溶液の析出が生じた後に成し遂げられる。

図5は、複数の入り口（84）と、1つの出口（86）に集まる複数のチャネル（82）を備えた実施例を示している。図5には、その様な2つの配列が示されている。各チャネル（82）には、オフチップ分析を改善するために、例えば校正用の標準液、液体シース流体、または化学試薬を含む異なる複数の流体が供給される。各チャネル内の流れは、圧力制御される。あるいは調整された電流分配器（88）が、チャネル内の電気浸透および電気泳動および電気前傾角のために使用される。

上述したように、この発明の微小チップデバイスは試料を質量分析器に移送するためのエレクトロスプレイ・インターフェース（E/S I / M S）として使用され得る。図6aを参照すると、質量分析器での検出用試料注入効率を増加するために、図1aの微小チップ（10）が3次元ステージ（21）上に搭載されている。このステージは、図6bに示すように、質量分析器（23）の試料孔（22）に対するチャネル出口（16）の精密な位置決めを可能とする。チャネル（12）に接続された1つのウェル（14）は、電気泳動用の緩衝液貯蔵器として使用されている。他の1つのウェル（13）は、試料注入用の微小デバイスの利用可能なウェル（15）は、閉鎖され、この実施例では使用されない。試料注入実験が行われるとき、ウェルは、例えばプラスチック製のストッパーによって気密にされ、チャネル内の流体試料を対応するチャネル出口に向けて移送するよう圧力が加えられる。

低電流、高電圧の電源（24）は、対応するチャネル内の試料をエレクトロスプレイ移送するために、緩衝液貯蔵器ウェル（14）に挿入された電極（25）を介して各チャネル（12）へ順番に電圧を印加する。高電圧電源（24）はグランド（26）に接地される。また質量分析器の第2のグランド（27）がある。前記電圧の大部分は、エレクトロスプレイ出口（16）と質量分析器の試料孔（22）との間の間隙に印加される。かくして、試料のエレクトロスプレイ移送が生起する。微小チップの9個のチャネルからの流体試料のエレクトロスプレ

イ移送は、シーケンシャルなモードで遂行される。1つのチャネルが試料分析器へ試料を注入している間は、他のチャネルは試料の準備に使用される。各試料分析器での分析の後に、次のチャネルがステージ（21）によって移動され、試料孔に位置決めされる。位置決めは、3次元ステージの位置を手で調整することによって手動式に実行され得る。または、ステージをステッパモータで移動させることによって、自動式に行うことともできる。一例として、最良の信号が得られるまで電圧を増加させることによって最適な電圧を決定し、その電圧は再調整することなく次のチャネルに使用される。出口と試料分析器の試料孔との間の距離は、厳密なものではなく、ミリメータ以下から數10ミリメータの範囲内にあれば良い。

以下の実験例は、この発明の利点を示すために呈示されたものである。

#### 実験例 I

異なる複数のチャネルから同じ試料を注入する異なる複数のチャネルの能力を調査するために、図1aに示したこの発明の微小デバイスの実施例を使用して、0.01mg/mのミオグロビン試料が同じ断面を有する2つの選択されたチャネルから注入された。図7aおよび7bに示すように、記録されたエレクトロスプレイの質量スペクトルの感度は、この2つのチャネルに関して近似している。このことは、この発明の微小デバイスの準備に使用された繊維加工技術が、再製造可能なチャネルを生成していることを意味している。実験によって決定されたミオグロビンの分子量は16,953であった。これは、実際の分子量16,950と比較した場合に、0.02%の精度限界を示している。スペクトル間の差がな違いは、タンパク質の分析にとって一般的なことである。

#### 実験例 II

高スループットの分析を導入するために異なる複数のチャネルから異なる複数のチャネルが、シーケンシャルな分析用の質量分析器に対するエレクトロスプレイ・インターフェースとして使用できることを検証するために、この発明の微小チップが、シーケンシャルな分析用の質量分析器に対するエレクトロスプレイ・インターフェースとして使用できることを検証するために、

4つの異なる試料がシーケンシャルに処理された。各試料（75/25/0, 1のメタノール／水／酢酸中の）は、図1aに示した微小デバイス上の異なるチャネルからスプレイされた。4つの分析された実験例に対応するスペクトルが、図8a～8dに呈示されている。各試料により決定された分子量（MW<sub>exp</sub>）、実際の分子量（MW<sub>act</sub>）および精度限界は次の通りである。

図8a : 0. 1mg/m<sup>l</sup> のミオグロビン、MW<sub>exp</sub> = 16, 95.3、  
MW<sub>act</sub> = 16, 95.0 精度限界 = 0, 0.2%

図8b : 0. 1mg/m<sup>l</sup> のエンドフィン、MW<sub>exp</sub> = 343.8, 3、  
MW<sub>act</sub> = 343.8 精度限界 = 0, 0.1%

図8c : 0. 1mg/m<sup>l</sup> のユビキチン、MW<sub>exp</sub> = 22, 12.0、  
MW<sub>act</sub> = 22, 12.4 精度限界 = 0, 0.2%

図8d : 0. 1mg/m<sup>l</sup> のシリシナル分析モードで動作しているときに、数分以内で行われた。生化学試料の分析に対して非常に高いスループットである。この操作手法は1つのチャネルが試料の分析に使用されている間に、試料準備が他のチャネルで導入され得ることを意味している。このモードでは、質量分析器の利用頻率は、従来に比べて高いものとなり得る。図1aに示されたものと同様のデザインで、この発明の微小デバイスは、質量分析器の分析スループットを増加するために、20チャネルも備えるように組み立てることが可能である。更に、図1dに示したような、3次元配列のチャネルを有する微小デバイスは、より高いスループットの可能性を示す。

### 実験例III

#### 検出限界の研究

図9は、メタノール／水／酢酸（75/25/0, 1）中の0. 001mg/m<sup>l</sup> のミオグロビン溶液を直接スプレイすることによって得られた、ミオグロビンのエレクトロスプレイ質量スペクトルを示している。この実験例の信号対雑音比は1

0:1よりも良好であり、検出限界が1.0<sup>-8</sup>Mよりも良好であることを示している。エレクトロスプレイ電圧は4, 4kVであった。

#### 実験例IV

##### 試料混合物のエレクトロスプレイ

図10は、0, 0.5mg/m<sup>l</sup> のヒト成長ホルモンと0, 0.5mg/m<sup>l</sup> のユビキチンの、メタノール／水／酢酸（75/25/0, 1）中の混合物を、幅6.0μmおよび深さ2.5μmに微小加工されたチップのチャネルから200nl/minの流率でスプレーした場合の質量スペクトルを示している。エレクトロスプレイ電圧（4, 3kV）は、チップの注入側から印加された。個々の試料成分に対する多重に偏電されたイオンの分離したエンベロープが、スペクトル中に観測される。各試料成分の確実な分子量計算は、これらのデータから可能であり、そして実験的に決定されたMW値は、各試料が分離したチャネルから分析された時の実験例Iの場合と同じであった。この実験は、複雑な混合物が微小デバイス内で部分的にまたは試料成分にさえ分離することなしに、分析され得ることを示している。質量分析器は、分離器として機能する。分離された実験では、MS/MS操作は、個々のイオンの構造を推論するために使用できる。

#### 実験例V

##### 水溶液中の試料の分析

図11aは、シリシナル内のメタノール／水／酢酸（75/25/0, 1）に圧力を加えて0, 0.5mg/m<sup>l</sup> のヒト成長ホルモンの水溶液を注入した場合のエレクトロスプレイ質量スペクトルを示している。図11bは、メタノール／水／酢酸（75/25/0, 1）の溶液から直接0, 0.5mg/m<sup>l</sup> のヒト成長ホルモン溶液を注入した場合のエレクトロスプレイ質量スペクトルを示している。

この実験例は、いかなる有機溶媒も先行的に添加することなしに、水性試料を直接オフチップ（微小デバイスの外部）エレクトロスプレイすることが、メタノールを供給された試料から得られるスペクトル（図11a）に比べて、高品質のスペクトル（図11b）を提供できること、および試料が完全に水性であっても、あるいはメタノールを供給された環境にあっても、実験的に決定された同じ分

分子量の値22, 120が得られることを示している。標準的なエレクトロスプレイ・インクファースを使用したこの実験では、試料は一般的には有機添加物と共に供給される。しかしながら、有機系加物に耐性のない生化学的試料に対しては、水溶液の直接スプレイが、分析を実行する上で最良のアプローチとなる。

#### 実験例VI

##### ペブチドおよびタンパク質のオンチップ温浸

図12aを参照すると、pH 8, 2のトリス緩衝液 20 mM中に、メリチントリブシン比率 = 3.00 / 1 (w/w) でメリチンのオンチップ温浸が導入されている。メリチンの濃度は 4.0 μM であった。エレクトロスプレイ質量スペクトル (1) は 1.0 分間の温浸によるものであり、またスペクトル (11) は 1 時間の温浸によるものである。2つの温浸時間の後に、同じ試料破片が検出されたが、異なるレベルであった。例えば、1つの生成イオンの温浸を表すピーク番号 2 が経時的に増加したのにに対し、1つの分子イオンを表すピーク番号 5 は長い温浸期間の後に減少した。

図12bは、2 μM のカゼインのオンチップ温浸とオフチップ温浸との比較を示している。反応条件は、カゼイン / ノトリブシン = 6.0 であることを除いて、図12aの実験で使用されたものと同様である。2つのスペクトルは実質的に同一のパターンを示している。これらの結果は、この発明の微量液体処理システムが、ペブチドとタンパク質の温浸運動の研究に使用できることを検証し、またオフチップおよびオフチップ温浸が全く同様の破片を生成することを示している。オンチップ温浸の成功はまた、エレクトロスプレイ試料分析用の試料をチップ上に予備的に準備することが実現可能であることを示し、また試料処理工程を簡略化し、分析スループットを増加させることになる。

#### 実験例VI

##### モデルDNA試料の分析

この発明の潜在能力を種々の試料の分析に利用するために、短いDNA破片 (20 mer) が、いかなる前処理もすること無しに、エレクトロスプレイ質量スペクトル分析器で分析された。結果として得られたスペクトルが図13に示さ

(25)

[図1]

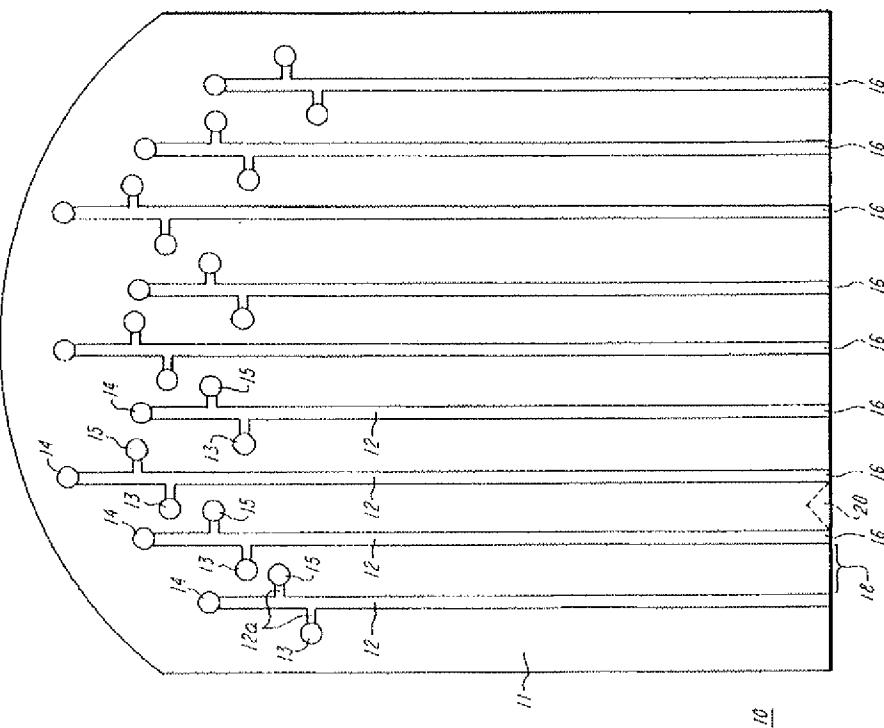


FIG. IA

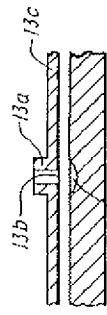


FIG. IB

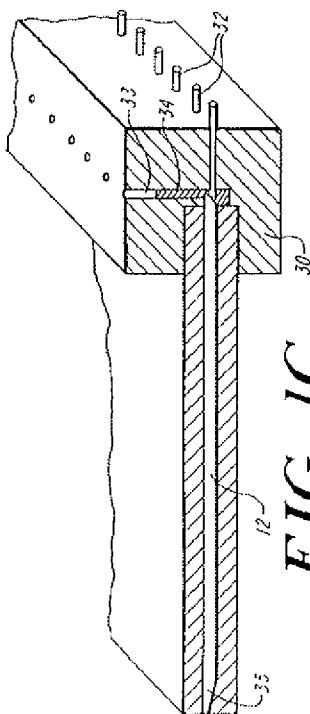


FIG. IC

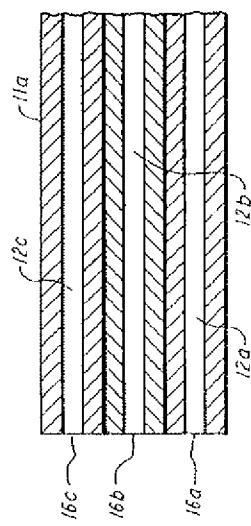


FIG. ID



FIG. IE

(27) 35長20002~515820

[図2]

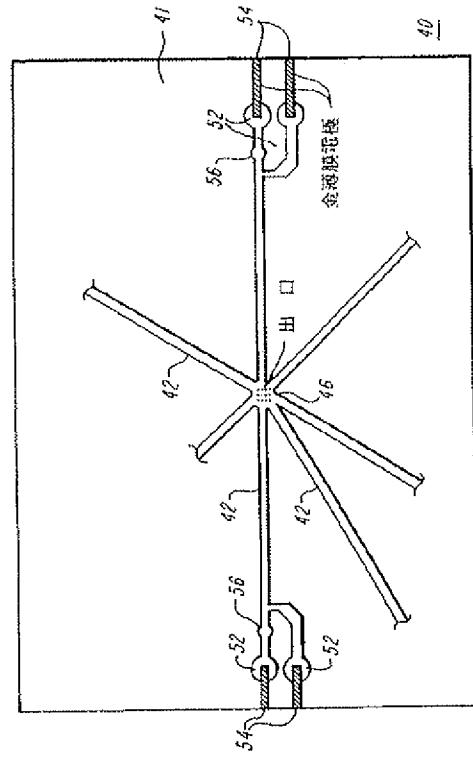


FIG. 2A

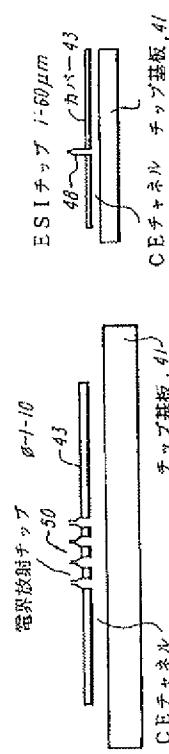


FIG. 2B

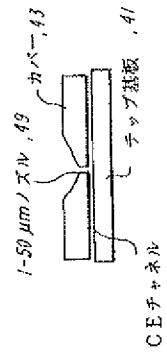


FIG. 2C

(28)

新規20002~515820

[図3]

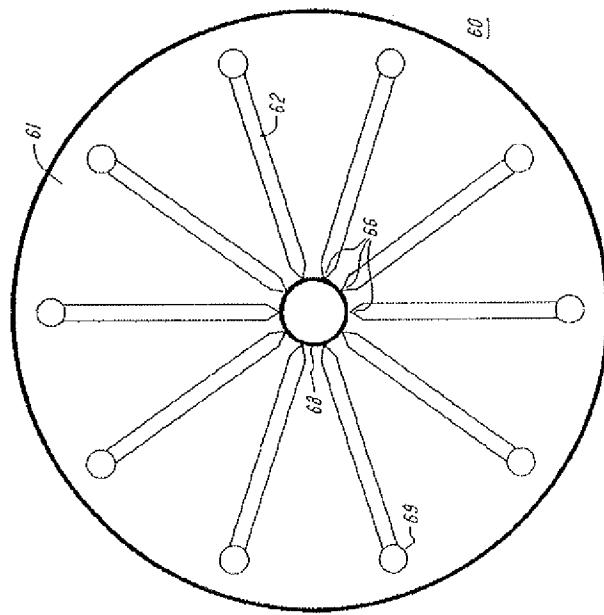
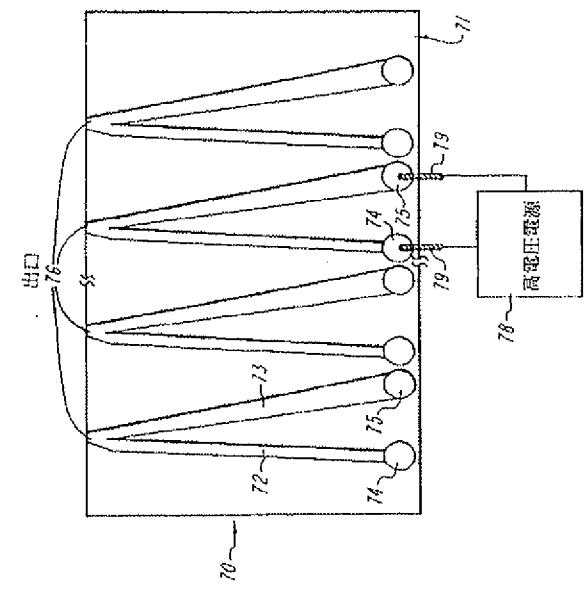


FIG. 3

特許2002-515820

(30) 特許2002-515820

(29)



[図4]

FIG. 4

[図5]

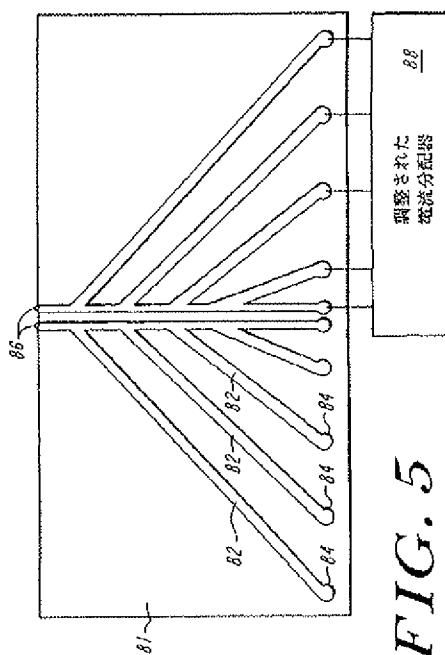
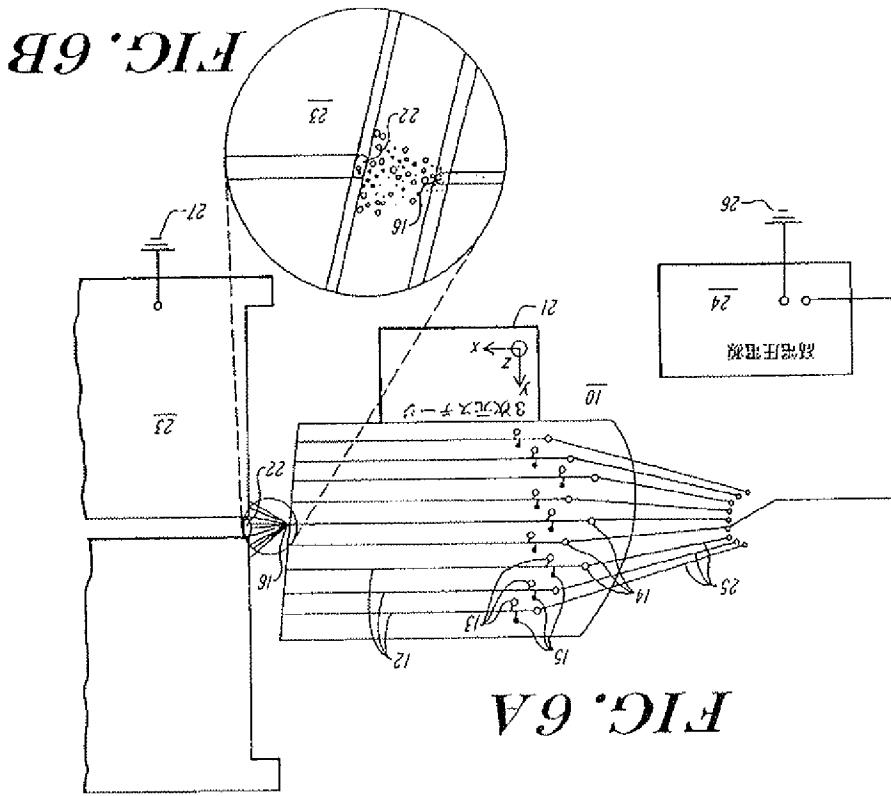


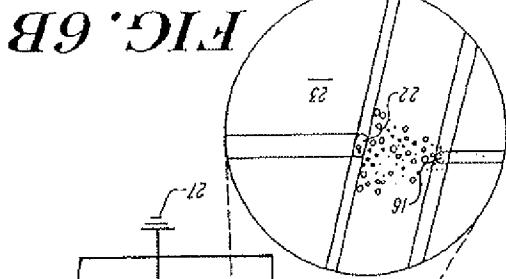
FIG. 5

[図6]

FIG. 6A

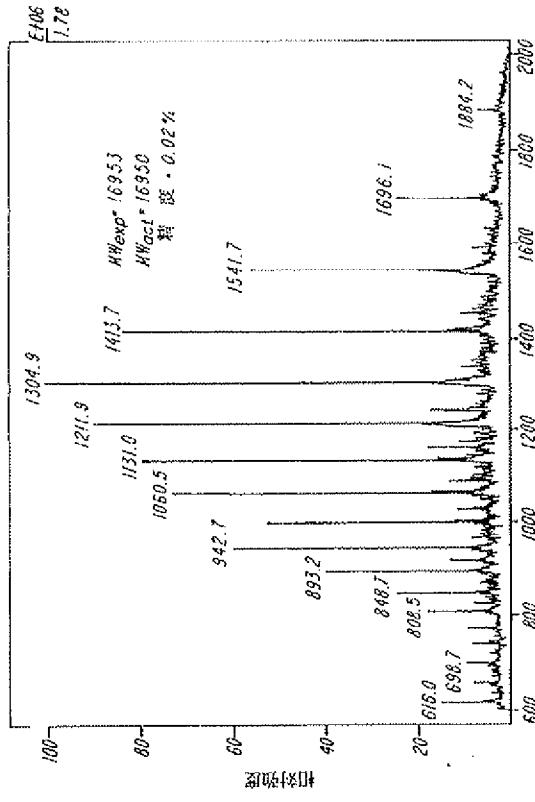


(30)

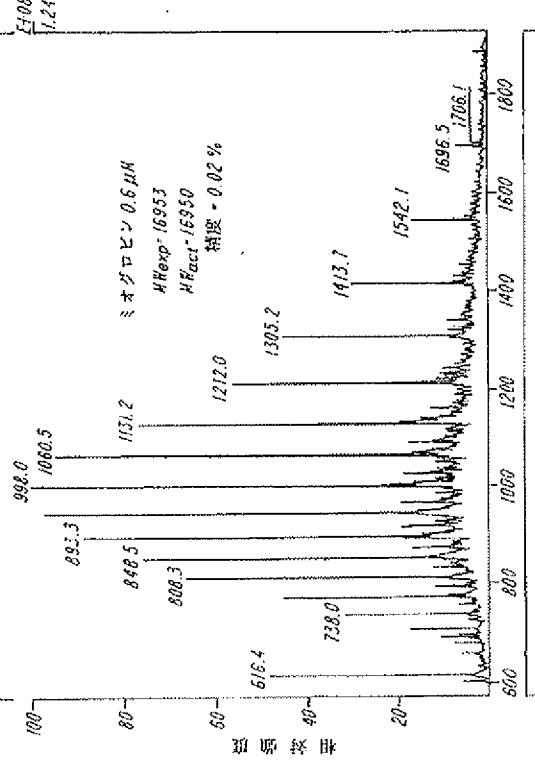


**FIG. 7A**

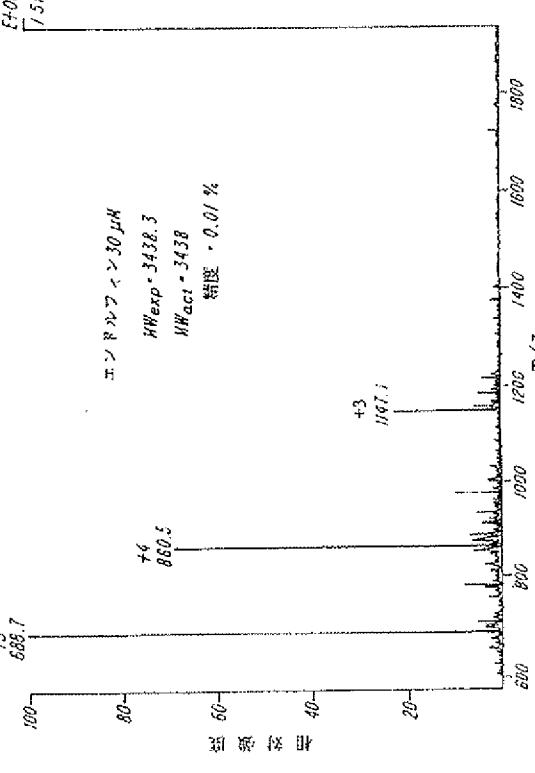
異なるチャネルからの0.6  $\mu$ M  
ミオグロビンの同じ試料

**FIG. 8A**

各チャネルから異なる試料  
ミオグロビン 0.6  $\mu$ M

**FIG. 7B**

$m/z$

**FIG. 8B**

$m/z$

[図8]

FIG. 8C 各チャネルから異なる試料

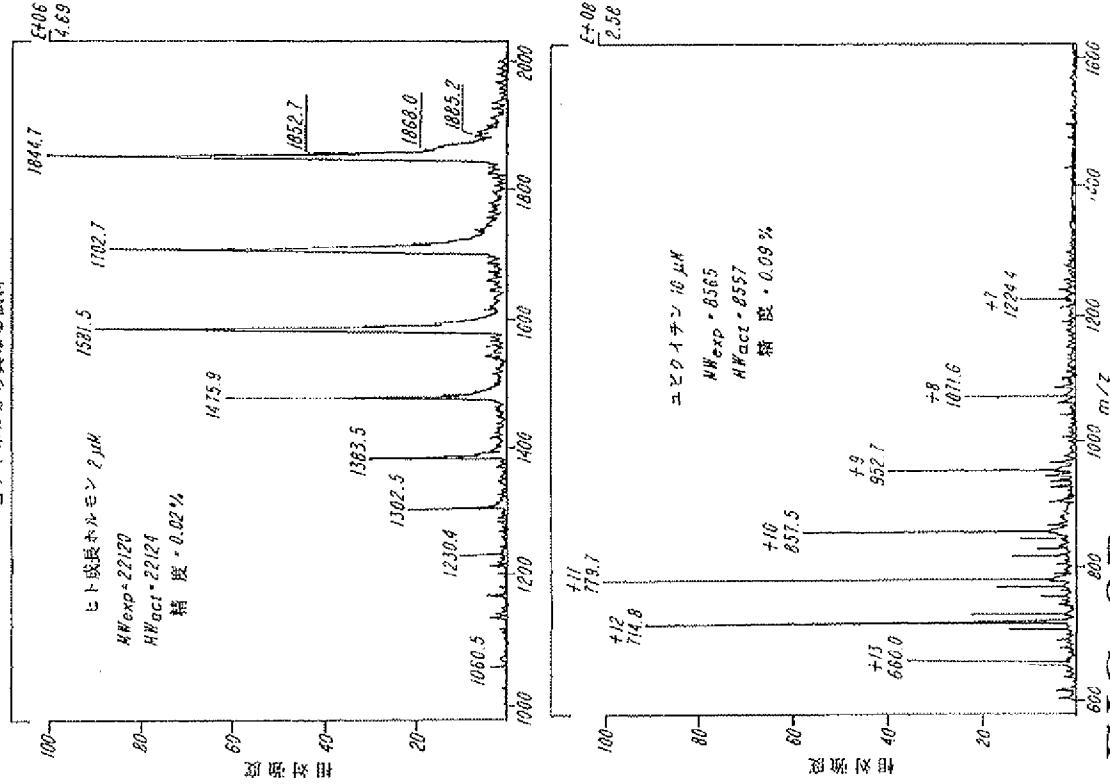


FIG. 8D

[図9]

60 nMのミオグロビンのスペクトル

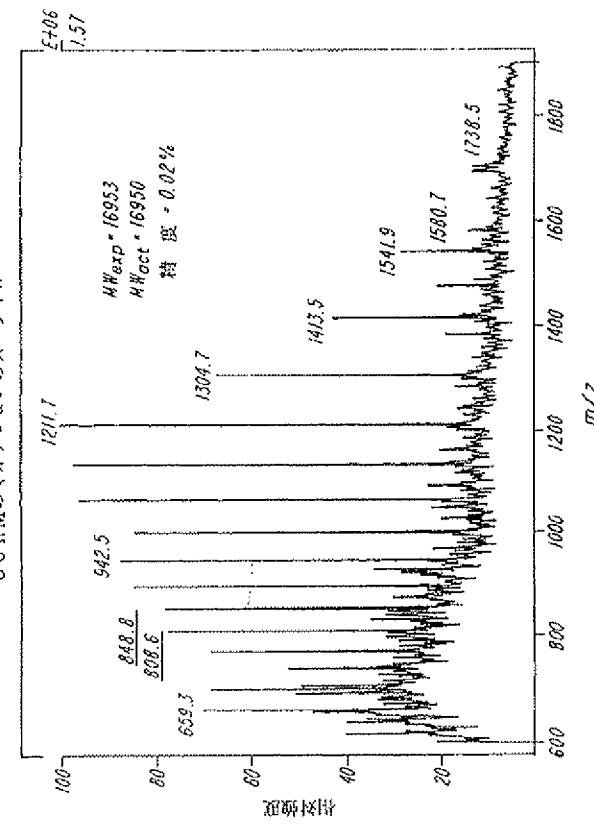


FIG. 9

[図10]

2  $\mu$ Mのヒト成長ホルモンと6  $\mu$ Mの  
エピカイテンの混合物

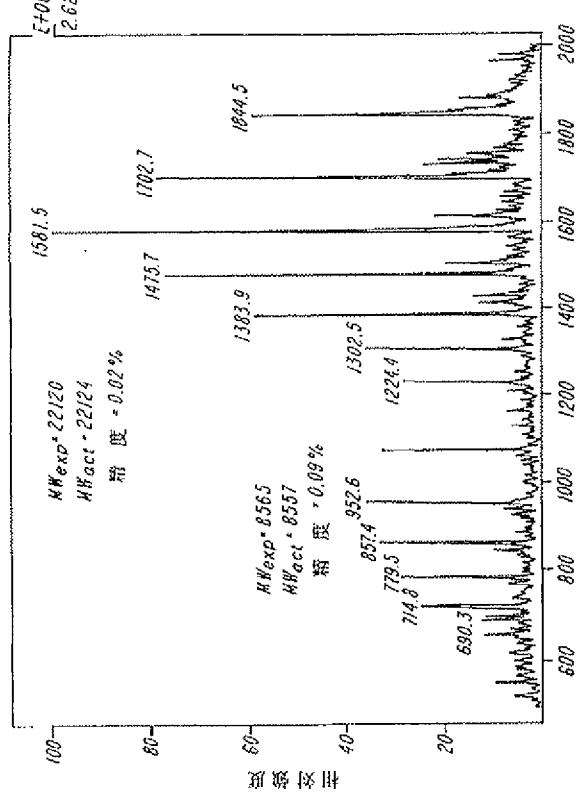


FIG. 10

[図11]

$H_2O$  対 7.5% MeOH  
ヒト成長ホルモン

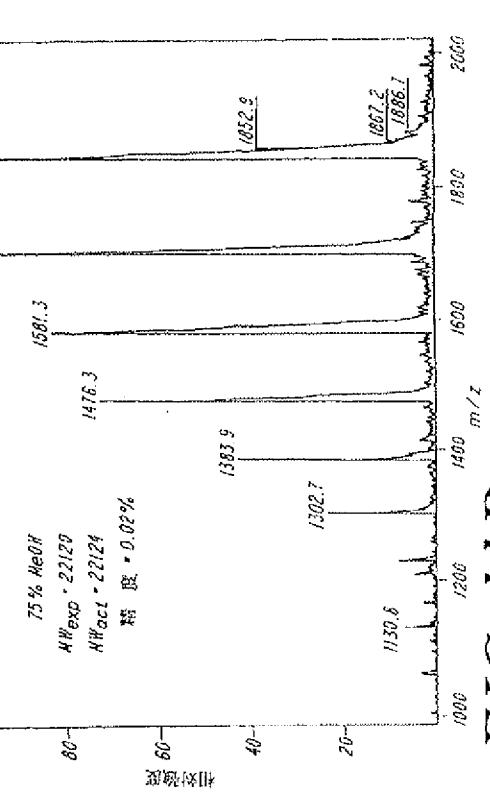
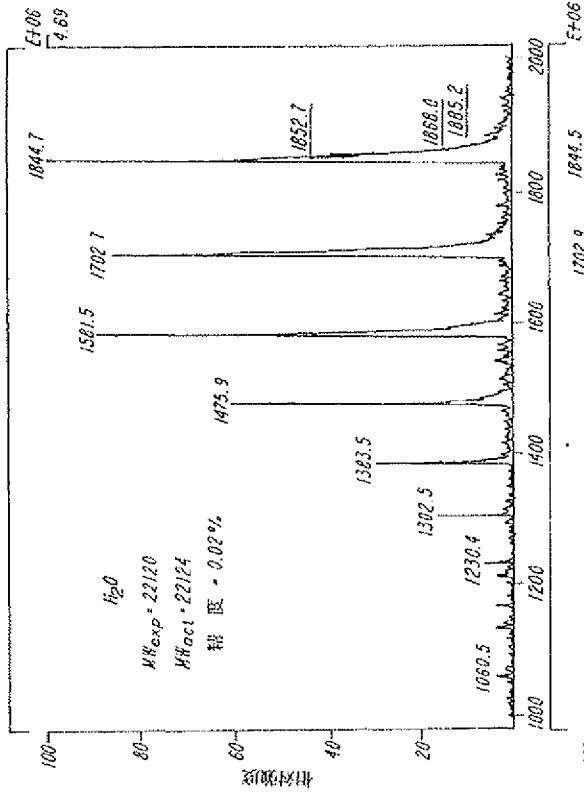
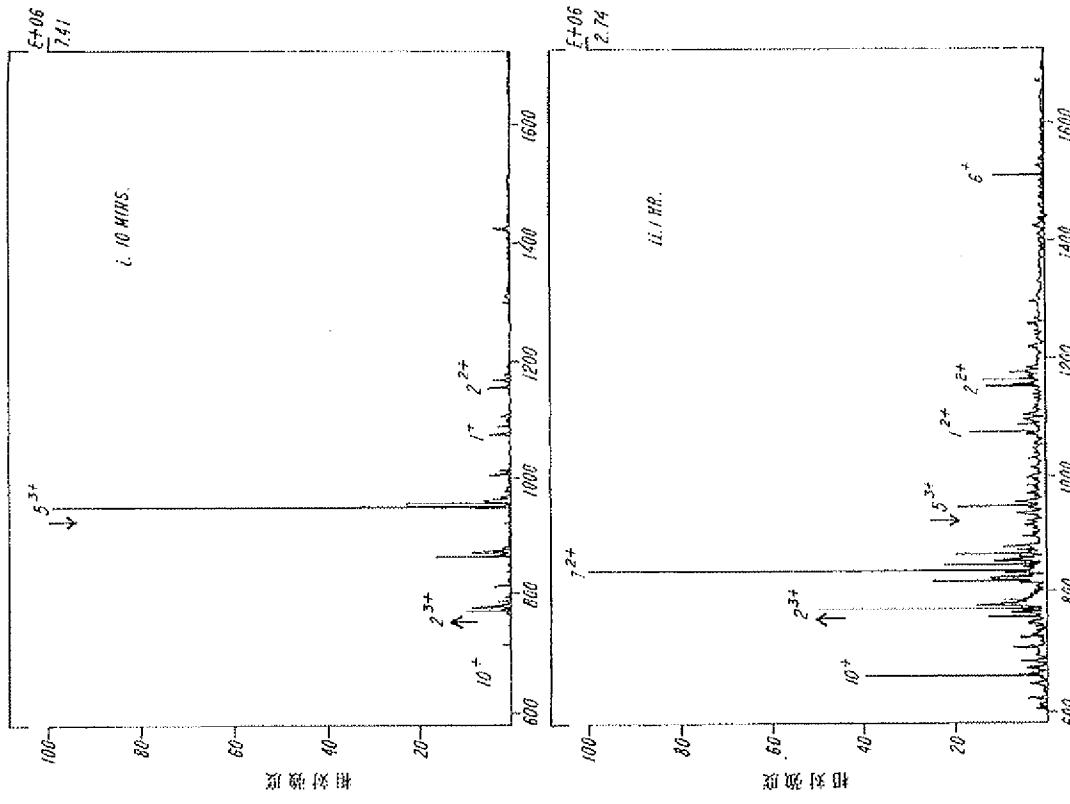


FIG. III B

10分対1時間  
メリチンのオシンチップ温湯



121

漫遊記

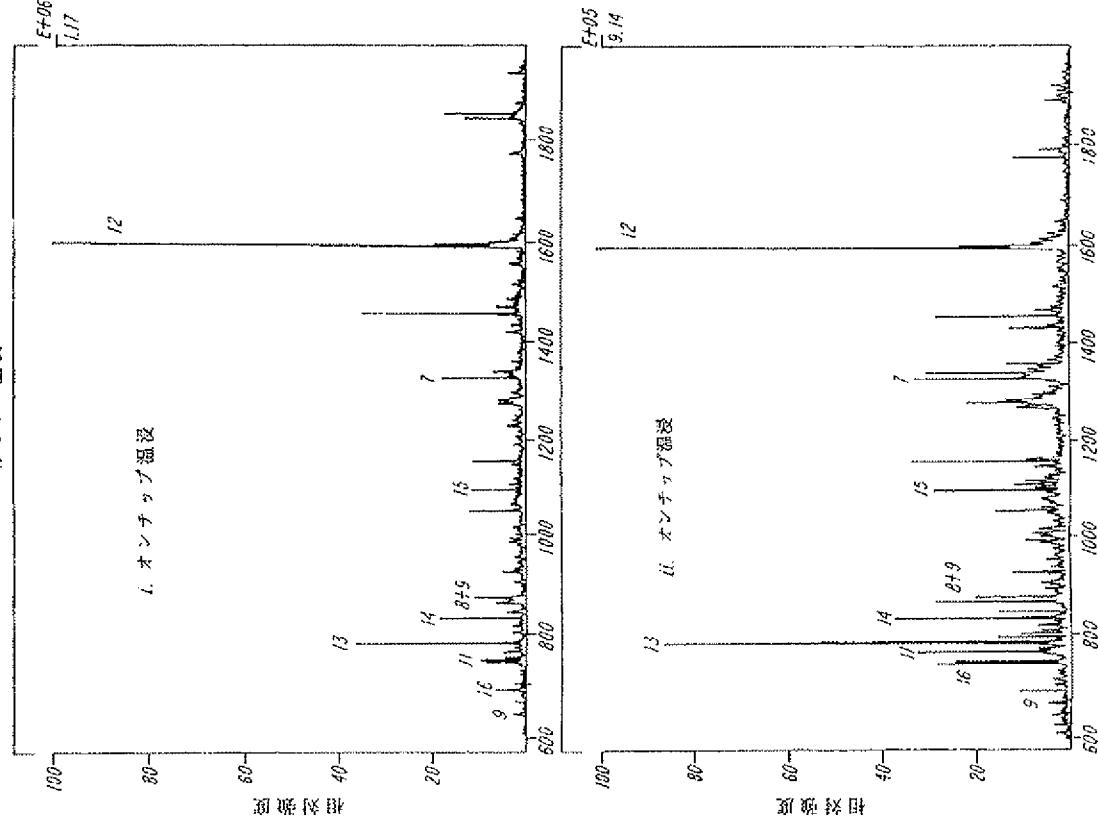


FIG. 124

FIG. 12B

[図13]

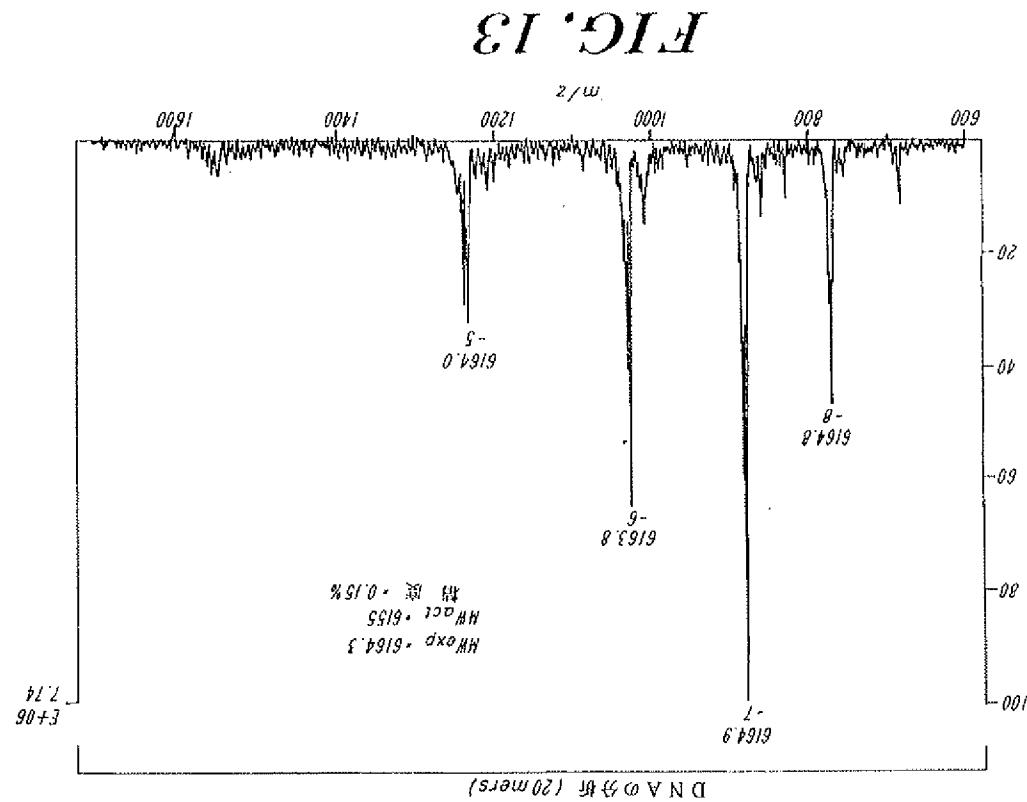
## 【手続補正書】

【提出日】平成10年2月27日(1998.2.27)

## 【補正内容】

## 請求の範囲

1. 1以上のチャネルが内部に集積的に形成された基板を備え、小滴、スプレイまたは流れによって前記1以上のチャネル内を前記基板から外部の分析および／または収集システムに向けて通過する微量の液体試料を移送するために、前記1以上のチャネルは、前記基板の外表面から突出しましたは同じだ1以上の出口に終結することを特徴とする微量液体処理システム。
2. 前記1以上のチャネルは、前記基板の1以上の主平面を横断することを特徴とする請求項1の微量液体処理システム。
3. 前記基板は、前記基板の単一の主平面内に含まれた複数のチャネルを備えることを特徴とする請求項1の微量液体処理システム。
4. 前記基板は、複数の平行な前記主平面を備え、それぞれが複数の前記チャネルを含んでいることを特徴とする請求項3の微量液体処理システム。
5. 前記1以上の出口の少なくとも1つは、前記1以上のチャネルが通過する第2の平行な主平面とは異なる前記基板の第1の主平面に配設されていることを特徴とする請求項1の微量液体処理システム。
6. 前記基板は、光学的勾配材料であることを特徴とする請求項1の微量液体処理システム。
7. 前記基板は、非導電性材料であることを特徴とする請求項1の微量液体処理システム。
8. 前記基板は、導電性材料であることを特徴とする請求項1の微量液体処理システム。
9. 2つの前記出口の間の前記基板の表面部分は、凹んでいることを特徴とする請求項1の微量液体処理システム。
10. 前記チャネルの2以上は、前記1以上の出口の1つに終結していること



を特徴とする請求項1の微量液体処理システム。

- 1.1. 前記エレクトロスプレイ出口は、前記1以上のチャネルに集積的に組み立てられていることを特徴とする請求項1の微量液体処理システム。
- 1.2. 前記エレクトロスプレイ出口は、前記基板から分離して組み立てられ、そして前記1以上のチャネルの端部に固着されていることを特徴とする請求項1の微量液体処理システム。

1.3. 前記基板の前記1以上のチャネルに隣接する領域は、微量液体試料の試験化学または微小準備または分析操作を導入するために、および液体試料を前記領域から前記1以上のチャネル内に移送するために適用されることを特徴とする請求項1の微量液体処理システム。

1.4. 前記基板に固着され、液体を前記1以上のチャネル内に移送するために適用される器械器または入り口を更に備えることを特徴とする請求項1の微量液体処理システム。

1.5. 前記1以上の出口の回りの前記基板の表面の部分は、前記1以上の出口にて行く前記液体試料によって表面が湿ることを防止する材料で被覆されていることを特徴とする請求項1の液体処理システム。

1.6. 前記基板は、表面が湿らない材料であることを特徴とする請求項1の微量液体処理システム。

1.7. 前記エレクトロスライ出口は、金属で被覆されていることを特徴とする請求項1.3の微量液体処理システム。

18. 前記 1 以上のチャネルの 1 つの内部表面には、前記基板とは異なる材料で被覆されていることを特徴とする請求項 1 の微量液体処理システム。

19. 基板を備え、前記基板には 1 以上のチャネルが集積化され、前記 1 以上のチャネルは前記基板の外表面から突出しましたは回んだ 1 以上の出口に終結している微量液体処理システムを提供するステップと、  
前記 1 以上のチャネルの 1 つに液体試料を供給するステップと、  
前記チャネル内で前記液体試料を前記出口の方向に通過させるステップと、

前記基板から小滴、スプレイまたは流れによつて外部の分析および／または収集システムに移送するステップとを備えることを特徴とする微少量の液体を処理するための方法。

2.0. 前記分析および／または吸集システムは質量分析器であり、そして前記液体試料は、エレクトロクロスフレイ・イオン化によって前記質量分析器に移送されるることを特徴とする請求項2.6の方法。

2.1. 前記液体試料は、圧縮空気式または超音波式噴霧によって、前記外部の分析および／または吸集システムに移送されることを特徴とする請求項2.6の方

2.2. 前記分析および／または収集システムは、質量分析器であり、そして前記液体は、化学イオン化により前記質量分析器に送達されることを特徴とする譯

2.3. 前記液体試料は、マトリクス支援レーザ脱離イオン化によつて、前記基板から前記外部の分析および／または収集システムに移送されることを特徴とする請求項2.6の方法。

2.4、前記外部の分析および／または収集システムは、レーザ誘起蛍光による検出用であることを特徴とする請求項2.6の方法。

2.5、前記液体試料を前記基板から出て行かせるステップにおいて、前記微粒液体処理システムは、前記外部分析および／または収集システムに対し静止して

2.6. 前記液体試料を前記試験板から出て行かせるステップにおいて、前記微量液体処理システムは、前記外部分析および／または収集システムに対し移動するデータ情報をとする請求項2.6の方法。

2.7. 前記液体試料を前記基板から出て行かせるステップに先行して、前記液体試料または前記液体試料の成分は、前記チャネル内で検出されることを特徴とする請求項2.6の方法。

2.8. 前記基板は、液体試料を前記試料の成分に分離するためのデバイスを更に備え、前記方法は、前記試料を前記試料の成分に分離するためのステップを更に備え。

に備えることを特徴とする請求項26の方法。

29. 前記液体試料を前記試料の成分に分離するためのデバイスは、前記基板内に集積されていることを特徴とする請求項36の方法。

30. 前記液体試料を前記試料の成分に分離するためのデバイスは、前記基板に取り外し可能に結合していることを特徴とする請求項36の方法。

31. 前記1以上のチャネルの前記1つは、液体試料を前記試料の成分に分離するための前記デバイスを備えていることを特徴とする請求項36の方法。

32. 前記基板は、試料の温湯を生起させるためのデバイスを更に備え、前記方法は、前記試料を温湯するステップを更に備えることを特徴とする請求項26の方法。

33. 前記基板は、試料を脱塩するためのデバイスを更に備え、前記方法は、前記試料を脱塩するステップを更に備えることを特徴とする請求項26の方法。

34. 前記基板は、試料を予備濃縮するためのデバイスを更に備え、前記方法は、前記試料を予備濃縮するステップを更に備えることを特徴とする請求項26の方法。

35. 前記基板は、試料に緩和力結合するためのデバイスを更に備え、前記方法は、前記試料を緩和力結合するステップを更に備えることを特徴とする請求項26の方法。

36. 前記基板は、試料をサイズ排除クロマトグラフィするためのデバイスを更に備え、前記方法は、前記試料をサイズ排除クロマトグラフィするステップを更に備えることを特徴とする請求項26の方法。

37. a. 液体試料を基板内に導入するための1以上のチャネルが内部に集積的に形成された前記基板を備え、前記1以上のチャネルは、小滴、スプレイまたは流れによって微少量の液体試料を外部に移送するために、1以上の出口に終結している微量液体処理基板と、

b. 前記1以上のチャネル内に試料を導入する手段と、

c. 小滴、スプレイまたは流れによる前記微小量の液体試料を受けるために前記微量液体処理基板の前記出口に対し離れ且つ近接している外部の分析およ

び

／または取集システムと備えることを特徴とする液体分析システム。

38. 基板と、液体試料を導入するために前記基板の内部に形成された1以上の第1チャネルと、

追加の流体を導入するためのものであつて、前記第1チャネルの1以上に集まって1以上の共通チャネルを形成する1以上の第2チャネルとを備え、

前記1以上の共通チャネルは、前記1以上の第1チャネル内を通過した微小量の液体試料を、小滴、スプレイまたは流れによつて、前記基板から外部の分析および／または吸収システムに移送するたゞに、前記1以上の出口における前記

基板の外表面に終結している

ことを特徴とする微量液体処理システム。

39. 前記1以上の第2チャネルは、前記微小量の液体試料に添加される追加の流体を導入し、前記追加の流体が液体シースとして機能できるようになります。

40. 1以上のチャネルが内部に集積的に形成された基板を備え、

小滴、スプレイまたは流れによつて前記46の微量液体処理システム。

41. 前記1以上のチャネルは、前記基板の外表面から突出した切頭円錐形の輪部を有する1以上の出口に終結する

ことを特徴とする微量液体処理システム。

42. 前記出口は、前記基板から分離されて組み立てられ、且つ前記チャネルの終端に閉着されることを特徴とする請求項48の微量液体処理システム。

43. 前記出口は、混らない材料で組み立てられ、または混らない材料で被覆

されていることを特徴とする請求項4-8の微量液体処理システム。

4-4. 前記基板は、湿らない材料で組み立てられ、または湿らない材料で被覆されていることを特徴とする請求項4-8の微量液体処理システム。

4-5. 1以上のチャネルが内部に集積的に形成された基板を備えた微量液体処理システムであつて、

小滴、スプレイまたは流れによって前記1以上のチャネル内を前記基板から外部の分析および／または収集システムに向けて通過する微少量の液体試料を移送するために、前記1以上のチャネルは、前記基板の平坦または湾曲した表面内の1以上の出口に終結し、  
前記1以上の出口は、前記基板の平坦または湾曲の表面内の個々の凹部に位置している

ことを特徴とする微量液体処理システム。

4-6. 前記個々の凹部は、断面が円錐形状または球形形状であり、また前記出団は、前記凹部の最底部またはその近傍に位置していることを特徴とする請求項5-3の微量液体処理システム。

4-7. 前記凹部の表面は、湿らない材料で形成されていることを特徴とする請求項5-3の微量液体処理システム。

4-8. 前記基板は、湿らない材料で形成されていることを特徴とする請求項5-3の微量液体処理システム。

4-9. 液体試料を基板内に導入するための1以上のチャネルが内部に集積的に形成された前記基板を備え、  
小滴、スプレイまたは流れによって前記1以上のチャネル内を前記基板から外部の分析および／または収集システムに向けて通過する微少量の液体試料を移送するために、前記1以上のチャネルは、前記1以上のチャネルの先細部によつて形成された1以上の出口に終結する

ことを特徴とする微量液体処理システム。

5-0. 追加の流体を導入するための1以上の第2チャネルを更に備え、前記1以上の第2チャネルは、液体試料を導入するための前記チャネルの1以上に集積

っていることを特徴とする請求項5-7の微量液体処理システム。

5-1. 液体試料を導入するための前記チャネルの1以上と前記第2チャネルの1以上は繋まって、出口の1つに終結する1以上の共通チャネルを形成することを特徴とする請求項5-7の微量液体処理システム。

5-2. 前記1以上の第2チャネルは、前記微量小量の液体に添加する追加の液体を導入して、前記追加の液体が液体シースとして機能できようようにすることを特徴とする請求項5-7の微量液体処理システム。

5-3. 1以上のチャネルが内部に集積的に形成された基板を備え、  
小滴、スプレイまたは流れによって前記1以上のチャネル内を前記基板から外縁の分析および／または収集システムに向けて通過する微少量の液体試料を移送するためには、前記1以上のチャネルは、前記基板の平坦または湾曲した湿らぬ表面内の1以上の出口に終結する

ことを特徴とする微量液体処理システム。

5-4. 基板を備え、前記基板には1以上のチャネルが集積化され、前記1以上のチャネルは前記基板の外表面から突出しましたは回んだ1以上の出口に終結している微量液体処理システムを提供するステップと、  
前記1以上のチャネルの1つに液体試料を供給するステップと、  
前記チャネル内で前記液体試料を前記出口の方向に通過させるステップと、  
前記チャネルの前記出口を通して前記基板から前記液体試料を出し、そして前記基板からエレクトロスプレイ・イオン化によって外部の質量分析器に移送するステップと

を備えることを特徴とする液体分析方法。  
5-5. 基板を備え、前記基板には1以上のチャネルが集積化され、前記1以上のチャネルは前記基板の外表面から突出しましたは回んだ1以上の出口に終結していいる微量液体処理システムを提供するステップと、  
前記1以上のチャネルの1つに液体試料を供給するステップと、  
前記チャネル内で前記液体試料を前記出口の方向に通過させるステップと、  
前記チャネルの前記出口を通して前記基板から前記液体試料を出し、そして前記基板からエレクトロスプレイ・イオン化によって外部の質量分析器に移送するステップと

前記基板から小滴、スプレイまたは蹴れによつて外部の破片収集システムに移送

するステップとを備えることを特徴とする微量液体処理方法。

56. a. 液体試料を基板内に導入するための 1 以上のチャネルが内部に集積的に形成された前記基板を備え、前記 1 以上のチャネルは、微少量の液体試料を外部に移送するために、1 以上の出口に終結している微量液体処理装置。

b. 前記1以上のチャネル内に試料を導入する手段と、  
 c. エレクトロスプレイ・イオン化による前記微小電の液体試料を受けるため  
前記微小電の供給部の前記出口に對し離れ日付近接する位置に於ける

析システムと  
を備えることを特徴とする液体分析システム。  
57. a. 液体試料を基板内に導入するための 1 以上のチャネルが、内部に集積的につながれた前記基板を備え、前記 1 以上のチャネルは、微量の液体試料を外部に移送するための 1 以上の出口に接続する液体供給装置。

前記1以上の手を交じて、道入主を玉屋と

c、小滴、スプレーまたは流れによる前記微小量の液体試料を受けるために前記微量液体処理基板の前記出口に對し離れ目<sup>1</sup>を持つ接接着部の設置位置

テムと

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

<p align="center">INTERNATIONAL SEARCH REPORT SEARCHED, EXAMINED, AND SEARCHED</p> <p align="center">U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE WILMINGTON, DELAWARE 19801-1195</p>	<p align="center">PCT/US95/1195</p>																							
<p><b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b></p> <p>IPC6 : G06N 1/14, 3/004 U.S. CL. : 422/270, 41, 103; 425/173, 174, 186, 736/1, 59, 83</p> <p>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and the PCT classification</p>																								
<p><b>B. FIELDS SEARCHED</b></p> <p>Maintain documentations searched (classification system followed by classification symbols)</p> <p>U.S. : 422/270, 41, 103; 425/173, 174, 186, 736/1, 59, 83</p> <p>Documentation searched other than maintained documentation to the extent that such documents are included in the fields searched</p>																								
<p>Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)</p>																								
<p><b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b></p>																								
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Category<sup>a</sup></th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Character of document, with indication, where appropriate, of the relevant paragraph</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="padding: 2px;">X</td> <td style="padding: 2px;">U.S. A, 5,376,252 (ERSTROM ET AL.) 27 December 1994, whole document.</td> <td style="padding: 2px;">1-9, 19, 20 and 25</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">--</td> <td style="padding: 2px;"></td> <td style="padding: 2px;">10-18 and 21-</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">Y</td> <td style="padding: 2px;"></td> <td style="padding: 2px;">24</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">Y</td> <td style="padding: 2px;">US, A, 4,708,782 (ANDERSEN ET AL.) 24 November 1987, figure 3</td> <td style="padding: 2px;">12-16, 23 and 24</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">A</td> <td style="padding: 2px;">US, A, 5,180,480 (MANZ) 19 January 1993, whole document</td> <td style="padding: 2px;">1-44</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">A</td> <td style="padding: 2px;">US, A, 5,283,036 (HOFMANN ET AL.) 01 February, 1994, whole document</td> <td style="padding: 2px;">1-44</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">A</td> <td style="padding: 2px;">US, A, 5,304,487 (WILDING ET AL.) 19 April 1994, whole document</td> <td style="padding: 2px;">1-44</td> </tr> </tbody> </table>	Category <sup>a</sup>	Character of document, with indication, where appropriate, of the relevant paragraph	Relevant to claim No.	X	U.S. A, 5,376,252 (ERSTROM ET AL.) 27 December 1994, whole document.	1-9, 19, 20 and 25	--		10-18 and 21-	Y		24	Y	US, A, 4,708,782 (ANDERSEN ET AL.) 24 November 1987, figure 3	12-16, 23 and 24	A	US, A, 5,180,480 (MANZ) 19 January 1993, whole document	1-44	A	US, A, 5,283,036 (HOFMANN ET AL.) 01 February, 1994, whole document	1-44	A	US, A, 5,304,487 (WILDING ET AL.) 19 April 1994, whole document	1-44
Category <sup>a</sup>	Character of document, with indication, where appropriate, of the relevant paragraph	Relevant to claim No.																						
X	U.S. A, 5,376,252 (ERSTROM ET AL.) 27 December 1994, whole document.	1-9, 19, 20 and 25																						
--		10-18 and 21-																						
Y		24																						
Y	US, A, 4,708,782 (ANDERSEN ET AL.) 24 November 1987, figure 3	12-16, 23 and 24																						
A	US, A, 5,180,480 (MANZ) 19 January 1993, whole document	1-44																						
A	US, A, 5,283,036 (HOFMANN ET AL.) 01 February, 1994, whole document	1-44																						
A	US, A, 5,304,487 (WILDING ET AL.) 19 April 1994, whole document	1-44																						
<p><input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Part C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.</p>																								
<p><input type="checkbox"/> Search continues on claim discontinuance.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Information disclosed in a document cited as prior art which is not contained in the document itself is considered to be information disclosed in the document.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Information published on or after the international filing date, concerning which there exists no priority claim or which is concerned with the publication date of another document or which is concerned with the publication date of another document or which concerns information on an application, use, exhibition or other communication concerning a document filed in a foreign country.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Information published prior to the international filing date, but later than the priority date, concerning which there exists no priority claim or which is concerned with the publication date of another document or which concerns information on an application, use, exhibition or other communication concerning a document filed in a foreign country.</p>																								
<p>Date of the actual completion of the international search</p>																								
<p>29 OCTOBER 1996</p>																								
<p>Date of mailing of the international search report</p>																								
<p>20 NOV 1995</p>																								
<p>Name and mailing address of the U.S. US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 355-5220 E-mail: PCTUSACG (second character of e-mail address is 302)</p>	<p>Authorized official <i>John V. Lefebvre</i> LONG V. LEFEBVRE Telephone No. (703) 355-2651</p>																							

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In-Office Application No.

PCT/US98/11945

## ((1)) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category <sup>a</sup>	Description of document, with indication, where appropriate, of the relevant section(s) or claim(s) referred to claim No.
A	US, A, 5,349,186 (KONOMOU ET AL.) 20 September 1994, whole document US, A, 5,415,841 (DOVICH ET AL.) 16 May 1995, whole document
A	1-44 1-44

## アシストマークの表示

## ((8)) 指定国 EPIAT, BE, CH, DE,

D.K., ES, FR, GB, GR, IE, IT, L

U, MC, NL, PT, SE), CA, JP

(72) 专利者 デブラ・キーリー, フィル・エス,

アメリカ合衆国 02062 マサチューザット州

ボストン ノーウッド ビーチ ストリート 15

25

## (72) 专利者 マクダル・アーヴィング, ジョセフ・スコット

アメリカ合衆国 02060 マサチューザット州

ウッドタウン ブルック・アベニュー 3

265

## (72) 专利者 ジ・ワニン

アメリカ合衆国 02145 マサチューザット

州 ブルービレ ハーバード・ストリート

25 アバートメント ナンバー3

## (72) 专利者 ドラゴンズキー, ジョーリ, エド,

アメリカ合衆国 02168 マサチューザッタ

州 マルテン・スイン ストリート

1010 アバートメント ナンバー18